

ВІДБІР ШТАМІВ ГРИБУ *LENTINULA EDODES (BERK.) SINGER.* ПЕРСПЕКТИВНИХ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ НА СОЛОМІ

***О.С. Мироничева, кандидат сільськогосподарських наук
Таврійський державний агротехнологічний університет***

*Досліджено можливість культивування попередньо відібраних швидкоростучих штамів грибу шіітаке (*Lentinula edodes (Berk.) Singer.*) на соломі. Установлено, що всі штами активно колонізують цей субстрат, але лише штам 363 здатен утворювати примордії та є перспективним щодо вивчення можливості введення в промислову культуру.*

Солома, штам, шіітаке, азот, вуглець, співвідношення С/Н.

Нині рослинні відходи сільського господарства є домінуючим видом потенційної сировини для мікробіологічної конверсії. Щорічно в Україні виробляється близько 60 млн т соломи, тому біоконверсія цієї сировини в харчові продукти є ключовою проблемою біотехнології [3].

Вищі базидіоміцети мають широкий набір позаклітинних гідролітичних та окисних ферментів, володіють високою проникаючою здатністю в рослинний субстрат, тому використання потенціалу цих грибів для утилізації сільськогосподарських рослинних решток для збагачення та отримання грибного протеїну є актуальним питанням [4].

Різноманіття промислово культивованих їстівних грибів на ринку України, на жаль, представлено лише двома видами – печерицею двоспоровою та гливою звичайною. Але у світі гриб шіітаке (*Lentinula edodes (Berk.) Singer.*) популярний серед споживачів завдяки своїм поживним та лікарським властивостям, тому пошук штамів здатних рости в умовах України є перспективним завданням.

Більшість штамів шіітаке (*Lentinula edodes (Berk.) Singer.*) завдяки їх субстратним перевагам росте на твердій деревині (переважно дуб) у природі та на синтетичних комплексах, які містять дубову тирсу та поживні речовини, такі як пшеничні висівки та просо. Але в умовах південно-східного регіону України та взагалі в умовах усієї країни цей вид субстрату (дуб) не є розповсюдженим, тому не зможе задовольнити потреби для промислового вирощування. Але дослідженнями таких вчених, як А. Philippoussis, Delpech Olivier, G. Mata та J.M. Savoie, установлено, що завдяки силі росту, властивостям активувати фізіологічні механізми та адекватним використанням середовища, деякі штами шіітаке здатні рости на твердих рослинних субстратах, таких як солома злакових. За даними цих авторів швидкість колонізації та здатність утворювати плодові тіла на лігнін целюлозному субстраті є одними з найважливіших показників відбору штамів цього грибу [10].

Мета дослідження – визначити можливість культивування попередньо відібраних за швидкістю колонізації штамів грибу шіітаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.) на пшеничній соломі.

Матеріали і методи дослідження. Об'єктами дослідження були перспективні для інтродукції в промислову культуру штами 353, 360, 361, 363, 365, 371, 372 грибу шіітаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.) з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК), які були відібрані попередніми дослідженнями за швидкістю радіального росту [5]. Усі культури зберігаються за температури +4 °С на картопляно-декстрозному агарі й пересіваються з перевіркою чистоти кожен рік.

Для дослідження солому пшениці подрібнювали на частки розміром близько 2 мм та 20 мм, потім зволожували та залишали на 12 годин. Автоклавували за температури 121°С та тиску 1,5 атм протягом 1 години в 100 мл конічних колбах з ватно-марлевою пробкою. Інокулювали чистою культурою штамів та ставили в термостат за температури 24°С на 60 діб. Було досліджено показники, що є визначними за час підбору субстрату для вирощування культивованих грибів: загальний вміст азоту й вуглецю встановлювали на приладі CN 2000 виробник LECO Corporation у Корнельському університеті, США. Наважку 0,2 г спалювали за температури 1300 °С, потім аналізувались отримані під час спалювання газу CO₂ та NO_x. CO₂ був проаналізований за допомогою інфрачервоного газоаналізатора. NO_x був проаналізований за допомогою термодатчика після того, як газ був перетворений у N₂ в гелієвому носії. Розрахунок %C та %N відбувся шляхом порівняння результатів вибірки зі стандартною кривою спалювання EDTA (етилендіамінтетраоцетовою кислотою). Для перевірки було проаналізовано додатковий матеріал – листя яблуні з відомим вмістом %C та %N з національного інституту стандартів та часу (NIST–1515), США. Співвідношення C/N розраховували класичним методом аналізу ґрунтів та рослинних решток [9].

Повторність дослідів – чотирикратна, результати вимірювань оброблено методами математичної статистики [7] та представлено графічно з використанням програми Microsoft Excel [2].

Результати дослідження та їх аналіз. Шіітаке є сапрофітними грибами білої гнилі, які розкладають лігнін целюлозні комплекси субстратів як основне джерело вуглецю та протоплазму як джерело азоту. Солома злакових багата на легкогідролізований полісахаридний комплекс і містить близько 40 % целюлози, 29 % геміцелюлози та 17 % лігніну. Лігнін соломи міцно зв'язаний з целюлозою та геміцелюлозою [6]. Речовини, що містять азот, представлені білками та амідами в кількості до 1,5 % [1].

Загальний вміст азоту та співвідношення вуглецю й азоту (C/N) – один з найбільш важливих факторів. У грибному субстраті цей показник характеризує ступінь розкладання субстрату грибами та рівень, на якому азот буде доступний міцелію гриба. Це співвідношення характеризує баланс поживних речовин у субстраті, з якого міцелій гриба будує свої клітини, отримує енергію та синтезує азотвмістні клітинні компоненти, такі як амінокислоти, ферменти,

ДНК. Співвідношення C/N на рівні 25:1 добре для вегетативного росту міцелію, на той час як для утворення плодових тіл необхідний рівень 40:1 на деревині [10].

Солома, що використовувалась у досліді, мала співвідношення C/N близько 47:1 (табл. 1). За 60 діб культивування рівень азоту в досліджуваних штамів збільшився в 2,4–2,9 раза, але немає суттєвої різниці щодо вмісту азоту після 60 діб культивування між штамми, є лише ймовірна різниця відносно до контролю. Вміст вуглецю навпаки достовірно відрізнявся, що свідчить про різницю використання полісахаридного комплексу соломи досліджуваних штамми. Рівень ймовірної апроксимації показників азоту та вуглецю цього досліді свідчить, що мінливість показників загальної кількості азоту й вуглецю на 93,7 та 99,9 % залежить від біологічних особливостей штамів.

Розмір часток близько 2 мм було вирішено випробувати згідно рекомендацій американських вчених D. Royses та J. E. Sanchez-Varquez як кращих для вегетативного росту міцелію. Отримані нами дані свідчать, що міцелій досліджуваних штамів добре росте на такій соломі, але утворення плодових тіл у цьому досліді не відбулося, що можна пояснити можливим виснаженням запасів кисню [11].

1. Хімічний аналіз соломи (розмір часток близько 20 мм) за біоконверсії штамми грибу шіітаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.) протягом 60 діб, % $M \pm m$, n=4

Штам	Значення		
	Азот	Вуглець	Співвідношення C/N
353	2,57±0,23	43,75±0,01	17,03
360	2,33±0,03	43,91±0,02	18,88
361	2,56±0,08	45,26±0,05	17,65
363	2,44±0,18	45,69±0,04	18,75
365	2,32±0,31	44,46±0,07	19,18
371	2,73±0,04	43,26±0,04	15,85
372	2,68±0,13	43,38±0,01	16,23
контроль	0,95±0,03	44,54±0,03	46,67
НІР _{0,95}	0,4	0,03	
Відносна похибка	0,97	0,004	

Дослід щодо можливого плодоношення був поставлений з розмірами часток близько 20 мм. Штам 365 був відмічений у досліді В.І. Фоміної [8], який добре росте на деревинному субстраті. У штамів 360, 361, 362, 371, 372 була відмічена коричнева міцеліальна плівка, яку деякі дослідники пов'язують з активністю ферменту тирозиназа та здатністю утворювати плодові тіла. Але в штаму 363 колонізація субстрату відбулася пошарово й з'явилися плодові тіла (рис.).



Рис. Формування примордій у штамі 363 за колонізації соломи

Висновки. Таким чином, проведені нами дослідження показують, що за такого співвідношення С/Н наша не збагачена солома дає можливість утворювати примордії дереворуйнівним грибом шиїтаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.). Для подальшого дослідження та можливої інтродукції в промислове інтенсивне культивування перспективним є штамі 363.

Список літератури

1. Авров О. Е. Использование соломы в сельском хозяйстве / О. Е. Авров, З. М. Мороз. – Л. : Колос, 1979. – С. 33–35.
2. Берк К. Анализ данных с помощью Microsoft Excel / К. Беннет, П. Кейри. – М. : Издательский дом «Вильямс», 2005. – 367 с.
3. Варнайте Р. Н. Биодegradация растительных отходов микромицетами / Р.Н. Варнайте, В.З. Раудонене // Микология и фитопатология. – 2003. – Т. 37. – Вып. 2. – С. 49–52.
4. Элисашвили В. И. Биоконверсия растительного сырья высшими базидиомицетами / В. И. Элисашвили // Микология и фитопатология. – 1993. – Т. 27. – № 6. – С.89–93
5. Мироничева О. С. Вплив температури на швидкість радіального росту штамів гриба шиїтаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.) / О. С. Мироничева, В. М. Єжов, Н. А. Бісько // Зб. наук. пр. ВНАУ. Овочівництво.– 2011. – № 7 (47). – С. 63–67.
6. Осадчая А. И. Биотехнологическое использование отходов растениеводства / А. И. Осадчая, В. С Подгорский, В. Ф.Семенов. – К. : Наукова Думка, 1990.– С. 9.
7. Основы научных исследований в агрономии / [Моисейченко В. Ф., Трифонова М. Ф., Заверюха А. Х., Ещенко В. Е.]. – М. : Колос, 1996. – С. 278–281.
8. Отбор высокопродуктивных штаммов *Lentinus edodes* / [Фомина В. И., Митропольская Н. Ю., Бісько Н. А., Шевцова Л. В.] // Микология и фитопатология. – 2003. – Т. 37, Вып. 2. – С. 60–65.

9. Nyle C. Brady. The Nature and Properties of Soils // Nyle C. Brady, Ray R. Weil // Pearson Educational Inc. – 2008. – P. 504–507.

10. Przybylowicz P. Shiitake Growers Handbook, the Art and Science of Mushroom Cultivation // P. Przybylowicz, J. Donoghue // Kendall. Hunt Publishing Company. – 1990. – P. 123.

11. Royse D. Influence of substrate wood–chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield // D. Royse, J.E. Sanchez-Varquez // Bioresource Technology. – 2001. № 76. – P. 229–233.

*Исследовано возможность культивирования предварительно отобранных штаммов гриба шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.) на соломе. Установлено, что при активной колонизации субстрата только штамм 363 способен образовывать примордии и является перспективным для изучения возможности промышленного культивирования.*

Солома, штамм, шиитаке, азот, углерод, соотношение C/N

*The possibility of cultivation on the straw of pre–selected fast–growing strains of shiitake mushrooms (*Lentinula edodes* (Berk.) Singer.). Found that all the strains actively colonize the substrate, but only strain 363 is able to form primordia and is promising to study the possibility of entering into commercial culture.*

Straw, strain, shiitake, nitrogen, carbon, the ratio S/N.